

# Prélèvements tissulaires tumoraux pour analyses moléculaires : comment les gérer au mieux ?

*Tumor tissue samples for molecular biology analysis: how to handle them?*

**Mots-clés :** Biomarqueur – Cancer du sein – Tissu – Fixation – Paraffine – Congélation.

**Keywords:** Biomarker – Breast cancer – Tissue – Fixative – Paraffin – Freezing.

J.P. Bellocq\*, C. Egele\*, P. de Crémoux\*\*\*, L. Ruck\*, C. Mathelin\*\*, E. Luporsi\*\*\*\*, M.P. Chenard\*

## Quelques points marquants

- Les résultats anatomopathologiques ou biologiques des biomarqueurs tissulaires ont un fort impact clinique.
- La prise en charge de l'échantillon tumoral entre le prélèvement et l'analyse (phase préanalytique) influence la qualité des résultats. Ses modalités (fixation [le formol demeurant le standard], congélation ou stabilisation par le RNAlater®) sont à adapter en fonction des molécules recherchées (protéines, ARN ou ADN) et des techniques utilisées (immunohistochimie, hybridation in situ, ELISA, PCR, RT-PCR ou analyse à haut débit). Les radiologues, chirurgiens et anatomopathologistes jouent un rôle déterminant pour optimiser cette phase, au prix d'une organisation à revisiter.
- Les RH (expression des récepteurs nucléaires) et HER2 (expression du récepteur de membrane et amplification du gène) sont recherchés en routine à partir d'un bloc de paraffine.
- Seuls les RH et HER2 ont le niveau LOE1 pour une utilité clinique pronostique et prédictive ; uPA/PAI-1 atteint ce niveau pour sa valeur pronostique.
- Le dosage de uPA/PAI-1 ne peut se réaliser que par méthode ELISA. Il nécessite 50 mg de tissu congelé, ce qui limite son utilisation en cas de tumeur de petite taille. Lorsque l'échantillon provient d'une tumeur sur laquelle un prélèvement percutané a été réalisé antérieurement, un délai de 15 jours est à respecter entre les deux gestes. ■

\* Département de pathologie, hôpitaux universitaires de Strasbourg; Association française d'assurance qualité en anatomie pathologique (AFAQAP).

\*\* Département de gynécologie, hôpitaux universitaires de Strasbourg.

\*\*\* Institut Curie, Paris.

\*\*\*\* Centre d'investigation clinique de cancérologie, centre Alexis-Vautrin, Nancy.

**L**es biomarqueurs tissulaires tumoraux à visée pronostique ou prédictive occupent une place importante dans la prise en charge du cancer du sein. Leur utilisation va croître dans les années à venir avec le nombre de molécules associées à des traitements ciblés, élargissant le champ de la médecine personnalisée.

Deux biomarqueurs ont atteint à ce jour le niveau de preuve maximal (LOE1 – *level of evidence 1*) pour une utilité clinique pronostique et prédictive : les récepteurs hormonaux et HER2. Le couple formé par la protéase uPA et son inhibiteur PAI-1 a atteint quant à lui un niveau de preuve maximal pour son utilité clinique pronostique. D'autres marqueurs sont actuellement utilisés, mais avec des niveaux de preuve inférieurs, comme Ki-67, témoin de prolifération, et plus récemment les signatures "21 gènes" (Oncotype DX™) et "70 gènes" (Mammaprint®) [1].

Leur utilisation implique la maîtrise des techniques d'analyse et la maîtrise de leur interprétation par les laboratoires d'anatomie et de cytologie pathologiques (ACP) et les laboratoires de biologie (2). Cela suppose que les échantillons tissulaires soient adaptés aux analyses demandées. Les conditions de préservation et de traitement de ces échantillons étant liées aux techniques analytiques employées, la bonne gestion de cette phase dite "préanalytique" passe par la coopération éclairée des acteurs de soins concernés par les prélèvements mammaires, à savoir les radiologues, les chirurgiens, les médecins ACP (pathologistes) et les biologistes.

Ce texte précise l'implication de chacun dans cette phase ; l'enjeu est d'importance, car une phase préanalytique mal réalisée n'est pas rattrapable.

Par rapport aux procédures assez souples utilisées avec succès depuis des décennies pour acheminer et conditionner les tissus destinés aux examens anatomopathologiques standard, celles permettant de préserver les protéines et les molécules d'acides nucléiques (ADN et ARN en particulier) sont plus strictes, tenant compte notamment des délais et des conditions de transport, des modalités de fixation et des températures de travail auxquelles sont exposés les tissus pendant leur traitement.

Il n'est pas fait état ici de la gestion des prélèvements obtenus par cytoponction, bien que la détermination de certains biomarqueurs soit possible sur matériel cytologique.

## **Les examens concernés et les modalités de conservation des tissus**

Les examens se pratiquent soit sur coupe tissulaire de 4 microns d'épaisseur étalée sur lame de verre – c'est le cas de l'immunohistochimie (IHC) et de l'hybridation in situ (HIS) réalisées en ACP –, soit à partir de fragments tissulaires ou de coupes épaisses (3 à 4 coupes de 10-15 microns d'épaisseur) de tissu congelé – c'est le cas des techniques biochimiques d'immuno-analyse (technique ELISA) et de PCR/RT-PCR (RT signifiant *reverse transcriptase* et non pas *real time*, la *real time* PCR étant synonyme de Q-PCR [Q pour quantitative]) réalisées dans des structures de biologie moléculaire.

**Les récepteurs hormonaux (RH: RO et RP)** sont des protéines nucléaires couramment recherchées par IHC sur lames à partir de tissu paraffiné (3). Ils ont été analysés par le passé en biochimie par radio-immunoanalyse, puis par immunoanalyse (test ELISA) après broyage d'échantillons congelés. De nos jours, ils peuvent être analysés par RT-PCR à partir d'extraits de tissu congelé, à partir de tissu placé temporairement dans du RNAlater® (milieu stabilisateur de transport avant sa congélation), ou éventuellement à partir de tissu paraffiné (après validation de la qualité de l'analyse, car l'ARN sur tissu paraffiné est en partie dégradé).

La surexpression de la protéine membranaire **HER2** est couramment recherchée par IHC sur lame à partir de tissu paraffiné, lequel peut également servir à détecter l'amplification du gène HER2 par HIS avec des sondes fluorescentes (FISH) ou marquées par un chromogène (CISH ou SISH) [4].

Tout comme les RH, HER2 peut être détecté par RT-PCR à partir d'ARN extraits de tissu congelé ou de tissu placé dans du RNAlater®. L'amplification de HER2 est également détectable par PCR à partir d'ADN extrait de tissu congelé ou de tissu paraffiné.

**Ki-67** est une protéine nucléaire couramment recherchée par IHC directement sur lames à partir de tissu paraffiné. Il peut aussi être analysé par RT-PCR à partir de tissu congelé, de tissu placé en RNAlater® ou éventuellement de tissu paraffiné.

**uPA/PAI-1** a la particularité de n'être analysable pour un usage clinique que par technique ELISA, ce qui nécessite obligatoirement du tissu congelé et isole la technique de dosage de toutes les autres.

**TABLEAU I.** Techniques d'analyse standard et modalités de conservation tissulaire selon le biomarqueur.

Biomarqueur	Technique d'analyse standard	Modalité de conservation du tissu	Technique alternative d'analyse	Modalité de conservation du tissu
<b>RO</b>	IHC	Paraffine	RT-PCR	Congélation ou RNAlater® ou éventuellement paraffine <sup>(1)</sup>
<b>RP</b>	IHC	Paraffine	RT-PCR	Congélation ou RNAlater® ou éventuellement paraffine <sup>(1)</sup>
<b>HER2</b>	IHC HIS	Paraffine	RT-PCR PCR	Congélation ou RNAlater® Congélation ou paraffine
<b>Ki-67</b>	IHC	Paraffine	RT-PCR	Congélation ou RNAlater® ou éventuellement paraffine <sup>(1)</sup>
<b>uPA/PAI-1</b>	ELISA	Congélation	-	-
<b>Oncotype DX™</b>	RT-PCR	Paraffine	-	-
<b>Mammaprint®</b>	RT-PCR	Congélation ou RNAlater®	-	-

<sup>(1)</sup> Après validation de la qualité de l'analyse car l'ARN sur tissu paraffiné est en partie dégradé.

**Oncotype DX™** est un test multiplexe recherchant par RT-PCR le produit d'expression de 16 gènes cibles et de 5 gènes de référence (test 21 gènes), dont RO, RP, HER2 et des marqueurs de prolifération dont Ki-67. Il est pratiqué sur tissu fixé et inclus en paraffine.

**MammaPrint®** est une analyse des ARN tissulaires à haut débit (transcriptome, puce Affymetrix), utilisant une signature de 70 gènes. Il est pratiqué sur tissu congelé ou plongé temporairement dans du RNAlater®.

Le **tableau I** résume les techniques d'analyse standard utilisées selon le biomarqueur recherché. Pour l'heure, il n'y a pas de recherche de mutations à visée thérapeutique comme c'est le cas pour l'adénocarcinome du poumon (recherche de mutation activatrice du gène EGFR par PCR) ou pour l'adénocarcinome du côlon (recherche d'absence de mutation du gène KRAS par PCR). Des développements du même ordre sont en cours pour le cancer du sein, et certains pourraient passer à l'utilisation clinique.

## **L'échantillon et son parcours**

---

L'échantillon est la portion de tissu tumoral destinée à l'analyse biologique ou ACP. Il se veut représentatif de la tumeur dans sa globalité. La préservation de son contenu moléculaire doit faire l'objet de toutes les attentions. Sa qualité dépend des délais avant préservation et du mode de préservation. Toutes les étapes font l'objet de recueil d'informations assurant la traçabilité de l'échantillon.

L'échantillon subit des modifications physiques tout au long de son parcours, depuis le prélèvement jusqu'à l'analyse technique. On parle ainsi d' "échantillon initial", obtenu au moment du prélèvement (ou dans un délai rapproché du prélèvement), et d' "échantillon final" (celui qui est analysé).

**L'échantillon initial** est une carotte tissulaire lorsque le prélèvement est réalisé par ponction-biopsie. En cas de pièce opératoire, l'échantillon initial est un fragment de la tumeur. Il résulte d'un geste d'échantillonnage réalisé au bloc opératoire (ou dans son environnement) ou à distance dans le laboratoire d'ACP.

**L'échantillon final** est soit une lame blanche, à savoir une lame de verre sur laquelle est déposée une préparation tissulaire de 4 microns encore enrobée dans la paraffine, soit un lysat cellulaire obtenu après broyage tissulaire.

Les carottes biopsiques percutanées sont immédiatement fixées, ou bien placées dans du RNAlater®, ou bien congelées avant transport au laboratoire. Étant donné la fragilité de l'échantillon sujet à dessiccation, le geste de conservation est à réaliser sur place.

Il existe deux modalités d'échantillonnage des pièces opératoires :

- L'échantillonnage est réalisé par le chirurgien immédiatement après le prélèvement ; comme lors des prélèvements par ponction, l'échantillon est transmis au laboratoire fixé, congelé ou stabilisé dans du RNAlater®.
- La pièce opératoire est acheminée entière vers le laboratoire d'ACP pour échantillonnage par le pathologiste. Le temps de transport doit alors être court. Le fait de

placer la pièce opératoire dans une atmosphère froide (4° C) permet de doubler ces délais. Certains auteurs préconisent le transport dans des pochettes sous vide (5), mais le recul sur cette méthode est encore insuffisant dans la pratique.

Les niveaux de température de transport et de conservation ont un impact sur les délais d'acheminement des pièces/échantillons et sur les performances de la conservation (*tableau II*).

**TABLEAU II.** Niveaux de température pour le transport et la conservation des pièces/échantillons.

Niveau de température	Transport	Conservation des échantillons
T° ambiante (env. 21° C)	Limité au transport des pièces opératoires (30 mn à 2 h selon la molécule recherchée)	Non adapté
T° ambiante avec RNAlater®	Limité au transport des échantillons (durée maxi: 1 semaine)	Conservation de courte durée
+4° C <sup>(1)</sup>	Permet de doubler les temps de transport des pièces opératoires	Non adapté
-20° C (congélateur)	Non adapté	Non adapté <sup>(2)</sup>
-78° C (carboglace)	Transport d'échantillons déjà congelés (jusqu'à 24 h)	Non adapté
-80° C (congélateur "-80")	Non adapté	Conservation de longue durée
-196° C (azote liquide)	Adapté aux échantillons	Conservation de longue durée

(1) Le tissu est placé dans un sachet en atmosphère confinée refroidie par de la glace.

(2) L'expérience allemande de terrain peut néanmoins servir comme moyen de conservation des échantillons pour uPA/PAI-1, pour une durée n'excédant pas 4 semaines.

## Les points critiques à maîtriser

Dans le cas des analyses par IHC ou HIS réalisées sur tissu paraffiné, plusieurs étapes préanalytiques sont critiques. C'est le cas de la fixation qui doit être immédiate pour les biopsies. Pour les pièces opératoires, le délai avant fixation ne doit pas dépasser 2 heures à température ambiante. Une durée de fixation insuffisante est également délétère: cette durée doit être de 6 heures au moins pour une biopsie et doit être comprise entre 24 et 48 heures pour une pièce opératoire. La température de l'étape d'enrobage en paraffine ne doit pas excéder 58° C. Les lames blanches doivent être stockées à 4° C si l'analyse ne se fait pas dans les 48 heures.

D'autres étapes sont également critiques pour les échantillons destinés aux analyses à partir de l'ARN (RT-PCR). Il est recommandé d'échantillonner les pièces le plus rapidement possible après l'exérèse. Une fois l'échantillon obtenu, il est conseillé de le

traiter immédiatement, par congélation dans l'azote liquide ou par immersion dans du RNAlater®. Cela est primordial pour les échantillons destinés à une extraction d'ARN, car les RNases, enzymes qui dégradent les ARNs, s'activent dès que le prélèvement est en ischémie chaude (délai entre la dévascularisation de la tumeur et l'exérèse) et le phénomène se poursuit lors de l'ischémie froide (délai entre l'exérèse et la stabilisation définitive du tissu par la congélation ou la fixation, ou la stabilisation temporaire par le RNAlater®).

Les contraintes de qualité pour l'analyse de l'ARN à haut débit (analyse du transcriptome sur puces Affymetrix, Agilent ou autre) sont supérieures à celles de la RT-PCR.

La recherche d'altérations géniques (analyse de mutations ou de polymorphismes de gènes) peut se faire sur du matériel fixé (à l'exclusion de la fixation par l'acide picrique). Là encore, la qualité de la fixation est importante pour éviter une dégradation de l'ADN.

Deux points critiques sont à mettre en avant pour uPA/PAI-1 :

- le délai d'acheminement des pièces opératoires avant la congélation des échantillons ne doit pas excéder 1 heure dans un environnement à 4° C ;
- l'échantillon ne doit pas prendre la zone de trajet de ponction à l'aiguille récente à visée diagnostique, ce qui conduit en pratique à n'opérer qu'après un délai de 15 jours après une ponction, le temps que les stimulations enzymatiques liées au processus de cicatrisation disparaissent.

Les points critiques avec leurs risques afférents et les principales recommandations sont regroupés dans le **tableau III**.

**TABLEAU III.** *Points critiques, risques afférents et recommandations selon les techniques d'analyse.*

Technique d'analyse	Étapes de la prise en charge technique	Points critiques	Recommandations	Risques	
IHC/HIS	Fixation des biopsies	Délai avant fixation	Fixation immédiate	Sous-évaluation du marquage	
		Durée	≥ 6 h	Sous-évaluation du marquage	
		Volume du fixateur	≥ 10 fois le volume du prélèvement	Sous-évaluation du marquage	
		Nature du fixateur	Formol comme standard <sup>(1)</sup>	Sous-évaluation du marquage	
	Fixation des pièces opératoires	Délai avant fixation	≤ 2 h		Sous-évaluation du marquage
		Durée	24-48 h		Sous-évaluation du marquage
		Volume du fixateur	≥ 10 fois le volume du prélèvement		Sous-évaluation du marquage
		Nature du fixateur	Formol comme standard <sup>(1)</sup>		Sous-évaluation du marquage

Comment diagnostiquer le cancer de la femme jeune ?

<b>IHC/HIS</b>	Inclusion en paraffine / enrobage	Température	≤ 58° C	Sous-évaluation du marquage
	Confection de lames blanches	Épaisseur des coupes	4 microns	Si trop épais (5 microns), superposition de noyaux en HIS
		Prise en charge	Dans les 48 h après la réalisation des lames Au-delà de ce délai, stocker à +4° C	Sous-évaluation du marquage
<b>ELISA</b>	Prélèvement	Existence d'un trajet de ponction antérieure	Opérer ≥ 15 jours après la ponction-biopsie	Faux positifs
	Échantillonnage	Volume de l'échantillon	≥ 50 mg	NI <sup>(3)</sup>
	Congélation des biopsies	Délai avant congélation	Congélation immédiate	Faux négatifs ou NI <sup>(3)</sup>
	Préservation des pièces opératoires	Délai avant échantillonnage et congélation	≤ 1 heure à +4° C	Faux négatifs ou NI <sup>(3)</sup>
<b>RT-PCR (ARN)</b>	Préservation de l'échantillon	Délai avant préservation	Préservation immédiate (congélation, RNAlater® ou éventuellement fixation)	Faux négatifs ou NI <sup>(3)</sup>
	Conservation des échantillons congelés	Température	-80° C ou azote liquide	Faux négatifs ou NI <sup>(3)</sup>
	Manipulation des échantillons	Dégradation des ARNs	Conditions de travail "RNase free"	Faux négatifs ou NI <sup>(3)</sup>
		Contaminations inter-échantillons	Témoins négatifs	Faux positifs
Chocs thermiques		Maintenir la chaîne du froid pour les échantillons congelés	Faux négatifs ou NI <sup>(3)</sup>	
<b>PCR (ADN)</b>	Mêmes remarques que pour l'ARN, hormis deux points : celui concernant les RNases et celui sur la fixation. <sup>(2)</sup>			

(1) Les anticorps sont conçus pour être utilisés sur tissu fixé au formol. Adapter une technique, en l'occurrence à un autre fixateur que le formol (substitut du formol), impose certaines règles : il n'est pas possible d'utiliser des réactifs ni des procédures validés par l'industrie pour une application donnée (intended use) dans d'autres applications sans validation extensive à la charge du laboratoire.

(2) L'analyse d'ADN est pratiquée couramment sur tissu paraffiné. Bien que moins fragile que l'ARN, il peut néanmoins se dégrader au cours de la fixation et des étapes de préparation du bloc de paraffine.

(3) NI : non interprétable.

## **Les acteurs**

---

La maîtrise de l'étape préanalytique demande une démarche coordonnée par plusieurs équipes ne travaillant pas dans la même unité ni, le plus souvent, dans le même lieu. Elle passe par un renforcement de l'information, de la formation et de la délégation de tâches.

### ***L'équipe de radiologie***

Le radiologue intervient en tout début de chaîne. Il peut ainsi "capoter" une biologie tumorale qui n'a pas été modifiée par d'éventuels traitements néoadjuvants ou par les remaniements cicatriciels intra-tumoraux secondaires aux ponctions à l'aiguille.

L'obtention d'un tel tissu "natif" s'avère en théorie idéale pour l'analyse des biomarqueurs, mais elle peut se heurter à deux obstacles :

- elle ne doit pas gêner le diagnostic ACP, qui reste l'objectif premier ;
- la quantité de tissu à fournir peut s'avérer insuffisante en cas de tumeur de petite taille, infra-centimétrique. L'idéal sera atteint quand une carotte tissulaire fixée et paraffinée autorisera, en plus du diagnostic ACP, la recherche de tous les biomarqueurs validés. Ce n'est pas le cas à ce jour, puisque uPA/PAI-1 nécessite non seulement du tissu congelé mais aussi un volume assez important (50 mg, soit l'équivalent d'un cylindre tumoral de 2 mm de diamètre et 16 mm de long). En cas d'impossibilité d'obtenir dans la même séance une carotte à fixer et une ou plusieurs carottes à congeler, il reste à reporter le prélèvement pour uPA/PAI-1 à l'intervention chirurgicale, avec d'autres aléas.

En secteur radiologique, la fixation immédiate des fragments garantit la conservation optimale des tissus. La gestion de tissus frais nécessite des moyens de réfrigération et de transport adaptés, à discuter en concertation avec les pathologistes et les biologistes en tenant compte des situations locales.

### ***L'équipe de chirurgie***

Le chirurgien dispose de la tumeur dans sa totalité et, qui plus est, dans son cadre tissulaire anatomique. Cela offre des avantages et expose aussi à des contraintes ou inconvénients :

- la tumeur peut avoir subi des altérations en rapport avec un traitement néoadjuvant ou des ponctions à l'aiguille ;
- la tumeur est située dans un environnement tissulaire qui la protège contre les altérations de dessèchement ;
- la tumeur doit être échantillonnée pour pouvoir être examinée au microscope ou traitée par des méthodes biochimiques ou de biologie moléculaire ;
- la tumeur est soumise aux temps d'ischémie chaude et d'ischémie froide.

Tous ces points font que les conditions d'échantillonnage et de transport méritent d'être étroitement adaptées et discutées, en concertation avec les pathologistes et les biologistes, selon les situations locales.

Concernant l'échantillon de 50 mg minimum pour dosage d'uPA/PAI-1, notons que 80 mg correspondent, sur une tranche de 1 mm d'épaisseur, à la section complète d'une tumeur ronde de 10 mm ou au quart de section d'une tumeur ronde de 20 mm.

### ***L'équipe de pathologie (ACP)***

En charge des diagnostics et de la qualification des tissus en démontrant qu'un échantillon est capable de répondre aux exigences spécifiées, le pathologiste est en contact avec les autres acteurs et s'assure en particulier de la traçabilité dans l'acheminement des pièces opératoires.

Dans sa structure, il met en place les procédures techniques permettant aux blocs en paraffine et aux lames paraffinées, dites "lames blanches", de conserver au mieux la qualité biologique des tissus, et plus seulement leur qualité structurale histologique et cytologique. Il s'astreint pour cela à réduire à l'intérieur de sa structure les délais d'ischémie froide et à maîtriser la fixation et les températures d'enrobage, de déplissage des coupes et de séchage des lames. Lors des étapes préparatoires des tissus en vue des analyses de biologie moléculaire utilisant la PCR, il s'attache à éliminer toute possibilité de "contamination" d'un tissu par un autre en mettant en place des circuits et des procédures spécifiques. Tout cela fait évoluer les pratiques en profondeur et accentue la charge de travail à l'intérieur des structures d'ACP, par ailleurs fragilisées, tout comme d'autres spécialités, par une démographie professionnelle actuellement défavorable.

### ***L'équipe de biologie***

Au-delà de son investissement pour le maintien de la qualité des résultats des analyses biologiques, on attend d'elle qu'elle s'attache, par des développements technologiques et des travaux méthodologiques, à simplifier la gestion des tissus aux étapes préanalytiques.

## **L'accréditation et la délégation de tâches**

La coordination de ces actions sera renforcée par les démarches d'accréditation qui se mettent en place dans les laboratoires. Au-delà de la participation à des contrôles qualité internes et externes portant sur les résultats des biomarqueurs, l'accent sera mis sur la maîtrise des étapes préanalytiques, dans lesquelles les cliniciens sont impliqués non seulement par les actes médico-techniques qu'ils réalisent mais aussi par le recueil de données alimentant la traçabilité des prélèvements.

La charge de travail accrue des pathologistes liée aux nouvelles contraintes préanalytiques nécessite de renforcer la délégation de tâches. Celle-ci s'exerce en direction du personnel technique à l'intérieur des laboratoires. Elle peut aussi s'orienter vers des acteurs à distance, comme ceux exerçant au bloc opératoire pour l'échantillonnage et pour la conservation immédiate. Cela demande une formation et des preuves de compétence pour l'exercice donné mais conduit à fluidifier et fiabiliser les circuits. Cette démarche sera alors gagnante à tous les niveaux.

## Focus sur les dosages d'uPA/PAI-1 : où en sont les pratiques ?

Un rapport conjoint de la SFSPM et de l'INCa sur l'état des connaissances relatives à trois biomarqueurs, dont uPA/PAI-1, a été présenté au congrès 2009 de la SFSPM à Lyon (1). Malgré un niveau d'utilité clinique pronostique prouvé élevé (LOE1), uPA/PAI-1 est relativement peu utilisé en France et dans d'autres pays au monde en raison de difficultés techniques et organisationnelles (nécessité de tissu congelé alors que le matériel paraffiné suffit pour les autres biomarqueurs à validité clinique prouvée, technique d'analyse peu adaptée aux tumeurs de très petite taille).

Le congrès 2010 sera l'occasion d'informer du degré d'appropriation du test par les équipes de sénologie et de se faire une idée des difficultés rencontrées dans son déploiement, en particulier celles liées à l'organisation des circuits de transport des échantillons et aux capacités de mise en place de l'analyse dans les laboratoires de biochimie.

## Conclusion

Le domaine des biomarqueurs tissulaires est mouvant et la réalité d'aujourd'hui n'est pas celle d'hier ni celle de demain. Cela demande de constantes adaptations techniques et organisationnelles de la part des laboratoires d'ACP et de biologie. Mais cela ne suffit pas. L'optimisation de la phase préanalytique, dont dépendent des décisions thérapeutiques majeures et la qualité des études de recherche clinique, est de la coresponsabilité des radiologues et des chirurgiens en charge des prélèvements et des pathologistes en charge des diagnostics et de la qualification des tissus. Cela implique une rigueur accrue dans des actions prédéfinies et sujettes à traçabilité, et aboutit à des évolutions de pratiques dont les impacts économiques (organisationnels et financiers) ne sont pas encore bien mesurés.

## Références bibliographiques

- [1] Rapport 2009 sur l'état des connaissances relatives aux biomarqueurs tissulaires uPA/PAI-1, Oncotype DX™ et MammaPrint® dans la prise en charge du cancer du sein. Rapport conjoint SFSPM-INCa. Collection INCa, Rapports & Synthèses 2009.
- [2] Hofman V, Ilie M, Gavric-Tanga V et al. Rôle du laboratoire d'anatomie pathologique dans l'approche préanalytique des examens de biologie moléculaire réalisés en pathologie tumorale. *Ann Pathol* 2010;30(2):85-93.
- [3] Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2784-95.
- [4] Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131(1):18-43.
- [5] Bussolati G, Chiusa L, Cimino A et al. Tissue transfer to pathology labs: under vacuum is the safe alternative to formalin. *Virchows Arch* 2008;452(2):229-31.